

# 亚洲小车蝗痘病毒与化学杀虫剂混用的杀虫效果及对寄主主要解毒酶活性的影响

杨新华<sup>1</sup>, 李永丹<sup>1,\*</sup>, 田兆丰<sup>2</sup>, 史雪岩<sup>1</sup>, 高希武<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学昆虫学系, 北京 100094; 2. 北京市农林科学院植保环保研究所, 北京 100089)

**摘要:** 亚洲小车蝗痘病毒(*Oedaleus asiaticus* entomopoxvirus, OaEPV)作为一种增效剂, 分别与马拉硫磷、毒死蜱、高效氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、溴氰菊酯化学杀虫剂混合饲喂亚洲小车蝗若虫, 统计致死中浓度  $LC_{50}$  和其混合使用后的增效比, 测定虫体内与抗性有关的两种重要酶——羧酸酯酶(CarE)和谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs)的比活力。结果表明: OaEPV 与化学杀虫剂混合饲喂亚洲小车蝗, OaEPV 与毒死蜱、高效氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、溴氰菊酯混用对亚洲小车蝗无明显的增效作用, OaEPV 与马拉硫磷混用, 具有一定的增效作用, 增效比为 1.42 倍。混剂感染亚洲小车蝗, 除与溴氰菊酯混用外, 虫体的中肠部位 CarE 的比活力都受到了明显的抑制作用, 其中 OaEPV 与马拉硫磷混用下降了 4.21 倍, 抑制作用最大。当 OaEPV 与氟氯氰菊酯、溴氰菊酯化学杀虫剂混用后, 中肠部位 GSTs 受到了明显的抑制作用, 而其脂肪体部位 CarE 和 GSTs 的变化无一定的规律性。结果提示痘病毒与农药混合处理时, 病毒主要通过抑制中肠部位 CarE 比活力而增加了农药的杀虫效果。

**关键词:** 亚洲小车蝗痘病毒; 化学杀虫剂; 增效作用; 羧酸酯酶; 谷胱甘肽 S-转移酶; 酶活性

**中图分类号:** Q965.9    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0454-6296(2008)05-0498-06

## Insecticidal effects of *Oedaleus asiaticus* entomopoxvirus in combination with chemical insecticides and effects on the main activities of detoxification enzymes of its host

YANG Xin-Hua<sup>1</sup>, LI Yong-Dan<sup>1,\*</sup>, TIAN Zhao-Feng<sup>2</sup>, SHI Xue-Yan<sup>1</sup>, Gao Xi-Wu<sup>1</sup> (1. Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100089, China)

**Abstract:** Third-instar nymphs of *Oedaleus asiaticus* were fed on artificial diet mixed with combinations of *O. asiaticus* entomopoxvirus (OaEPV) and the insecticides of malathion, chlorpyrifos,  $\beta$ -cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin, in which OaEPV was used as a synergist. Mortalities were observed, and  $LC_{50}$  values and the synergic ratios were determined. The specific activities of two enzymes (carboxylesterase, CarE; glutathione S-transferases, GSTs) in relation to the pest resistance to insecticides were also assayed. The results showed that combinations of OaEPV and chlorpyrifos,  $\beta$ -cypermethrin, cyfluthrin, deltamethrin had no distinct synergism, whereas the combination of OaEPV and malathion was more effective than malathion alone in some degree. The synergic ratio of OaEPV to malathion was 1.42 times. Except deltamethrin, the specific activities of CarE in the midgut of *O. asiaticus* nymphs treated with mixtures of OaEPV and other insecticides mentioned above were inhibited obviously as compared to insecticide treatments alone. The highest inhibition ratio of CarE specific activity, 4.21 times, appeared when OaEPV was mixed with malathion. The specific activities of GSTs in the midgut of *O. asiaticus* treated with the mixtures of OaEPV and cyfluthrin or OaEPV and deltamethrin were evidently inhibited as compared to insecticide treatments alone. The specific activities of

基金项目: 国家“十一五”支撑计划“高效减量化学防治新技术”(2006BAD08A03)

作者简介: 杨新华, 女, 1982年生, 湖北孝感人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫毒理生理生化, E-mail: yangxinhua2008@gmail.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: yongdanli@cau.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-10-14; 接受日期 Accepted: 2008-03-03

CarE and GSTs in the fat body of *O. asiaticus* treated with the mixtures, however, were not significantly changed as compared to insecticide treatments alone. The results suggest that OaEPV enhances the insecticidal effects of chemical insecticides against *O. asiaticus* by inhibiting the specific activity of CarE in the midgut.

**Key words:** *Oedaleus asiaticus* entomopoxvirus (OaEPV); chemical insecticides; synergism; carboxylesterase (CarE); glutathione S-transferases (GSTs); enzyme activity

亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* 是我国内蒙古草原蝗虫优势种,每年在牧区危害严重。亚洲小车蝗痘病毒(*O. asiaticus* entomopoxvirus, OaEPV)是亚洲小车蝗的病原微生物,一旦发生田间流行,可以长期有效地控制虫口密度,有望发展成为生物杀虫剂(王丽英,1994)。但杀虫作用缓慢是蝗虫痘病毒进一步开发利用的障碍。有效地解决昆虫病毒杀虫缓慢的手段,可以与低剂量的农药混合使用。混合制剂保留了广谱、快速的杀虫特性,即降低了农药的用量,降低了成本,又兼有长效的防治效果,具有很好的应用前景(吕鸿声,1998)。

羧酸酯酶(CarE)和谷胱甘肽S-转移酶(GSTs)是昆虫体内两种重要的解毒酶。大多数昆虫对化学杀虫剂敏感性的降低,主要是由于体内解毒酶的酶活性增高,降解多种化学杀虫剂所致,特别是对拟除虫菊酯和有机磷类杀虫药剂的解毒代谢。苏云金杆菌、昆虫杆状病毒及绿僵菌等病原微生物与化学杀虫剂混用的研究,已有报道(Vail *et al.*, 1980; Bache *et al.*, 1989; 万成松等, 2000; 张慧等, 2006),但蝗虫痘病毒与化学杀虫剂混用的研究,尚未见报道。我们选用常用的几种化学杀虫剂与 OaEPV 混合饲喂亚洲小车蝗若虫,进行生物活性测定和两种主要解毒酶的比活力测定,进而探讨蝗虫痘病毒与化学杀虫剂混用的杀虫效果与作用机制,无疑在理论和应用上具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 亚洲小车蝗:**河北省保定田间采集成虫,实验室饲养产卵孵化。

**1.1.2 亚洲小车蝗痘病毒:**亚洲小车蝗痘病毒(OaEPV)以黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* 为替代寄主增殖获得,将 OaEPV 感染致死的黄胫小车蝗尸体加入蒸馏水研磨,双层纱布过滤,差速离心,反复 3 次,计数  $5 \times 10^8$  OBs/mL,作为感染母液,供实验用。

**1.1.3 杀虫剂:**92.3% 马拉硫磷原药,辽宁葫芦岛农药厂;90% 毒死蜱原药,美国陶氏益农公司;93%

高效氯氰菊酯原药,天津龙灯化工厂;5.7% 氟氯氰菊酯乳油,德国拜耳公司;98% 溴氰菊酯原药,浙江威尔达华工有限公司。

**1.1.4 试剂:** $\alpha$ -乙酸奈酯( $\alpha$ -NA),化学纯(上海试剂一厂产品);固蓝 RR 盐(Fluka 公司产品);还原型谷胱甘肽(GSH)和 1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)(Sigma 公司产品);考马斯亮蓝 G-250(英国进口分装,中国医药公司北京采购供应站经销)。

### 1.2 亚洲小车蝗饲养方法

在养虫笼中放新鲜玉米叶和麦麸饲养,温度  $28 \sim 30^\circ\text{C}$ ,湿度 30% ~ 50%,光照培养 16L:8D。

### 1.3 生物活性测定

致死中浓度( $LC_{50}$ )生物测定方法:选大小一致的 3 龄若虫 20 头一笼,每笼接种液量 1 mL,每处理 60 头试虫,3 次重复。将试虫分设 4 组接种:病毒对照组,化学杀虫剂组,病毒与化学杀虫剂组,对照组。4 组生测同步进行。

病毒对照组:将病毒稀释  $2 \times 10^6$  OBs/mL,感染饥饿 24 h 的 3 龄若虫,每天统计死亡数与存活数,共 10 天。

化学杀虫剂组:将上述化学农药的母液分别稀释  $1 \times 10^3$ ,  $1.25 \times 10^3$ ,  $1.67 \times 10^3$ ,  $2.5 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^3$  倍。分别感染饥饿的 24 h 的 3 龄若虫,依上法分别求出各杀虫剂的  $LC_{50}$  标准误和置信限。

病毒与化学杀虫剂组:将上述几种化学杀虫剂分别稀释  $2 \times 10^3$ ,  $2.5 \times 10^3$ ,  $3.34 \times 10^3$ ,  $5.0 \times 10^3$ ,  $10 \times 10^3$  倍,稀释后分别与  $4 \times 10^6$  OBs/mL 等比混合,感染饥饿 24 h 的 3 龄若虫,依上法分别求出各混剂的  $LC_{50}$  标准误和置信限。

对照组:用 0.1% Trinton-100 处理过的玉米叶饲养。

### 1.4 酶比活力测定

**1.4.1 亚洲小车蝗的处理:**大田收集亚洲小车蝗,饲养成成虫,产卵孵化,用玉米喂到 3 龄。分设 4 组:对照组,新鲜的玉米饲养 5 天;病毒组,  $2 \times 10^6$  OBs/mL 的 OaEPV 感染 5 天;病毒 + 化学杀虫剂组,前 4 天用含有  $2 \times 10^6$  OBs/mL 的 OaEPV 的饲料喂养,第 5 天加化学杀虫剂(浓度均为 1.00 mg/L)。化

学杀虫剂组 ,前 4 天无毒饲养 ,第 5 天用混有化学杀虫剂(浓度同上)的饲料喂养 ;第 6 天取样制备酶源。每处理 10 头试虫 4 次重复。

**1.4.2 酶源的制备 :**羧酸酯酶( CarE ):取上述经过处理的若虫 10 头 ,解剖其中肠和脂肪体 ,用 0.1 mol/L PBS( pH 7.0 )漂洗中肠数次 ,加 2 mL 的缓冲液冰浴匀浆 ,于 4℃ 10 000 × g 离心 15 min ,上清液即为酶源。 - 80℃ 保存备用。每处理 3 次重复。

**谷胱甘肽 S-转移酶( GSTs ):**取上述经过处理的若虫 10 头 ,解剖其中肠和脂肪体 ,用 0.4 mol/L PBS ( pH 6.5 ) ,加 2 mL 缓冲液冰浴匀浆 ,于 4℃ 10 000 × g 离心 20 min ,上清液即为酶源。 - 80℃ 保存备用。每处理 3 次重复。

**1.4.3 酶活性测定 :**GSTs 活性的测定 参照 Habig 等( 1981 )的方法 ,反应总体积 900 μL ,加底物 30 mmol/L 的还原型谷胱甘肽( GSH )30 μL 和 30 mmol/L 的 1-氯-2,4-二硝基苯( CDNB )30 μL ,加缓冲液和酶液 840 μL ,在 340 nm 下记录 2 min 内的吸光度变化。并测定酶液的蛋白含量。每处理 3 次重复。

**CarE 活性的测定 :**参照 van Asperen( 1962 )的方法。反应体系含 0.45 mL 0.04 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液 ,1.8 mL 3 × 10<sup>-4</sup> mol/L 的 α-NAC( 含 3 × 10<sup>-4</sup> mol/L 的毒扁豆碱 )及 0.05 mL 稀释后的酶液。 30℃ 水浴 15 min 后 ,加入 900 μL 显色剂( 1% 固蓝 B 盐 :5% 的 SDS = 2 :5 )终止反应。对照在反应后加入酶液。静置 15 min 后 ,测其 OD<sub>600</sub> 值。并测定酶液的蛋白含

量。每处理 3 次重复。

**1.4.4 蛋白质含量测定 :**参照 Bradford( 1976 )考马斯亮蓝 G-250 方法。以牛血清蛋白为标准。

**1.4.5 数据统计方法 :**计算所得 LC<sub>50</sub> 值用 POLO 软件处理分析 ,酶比活力值用 Instant 数据处理软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 OaEPV 与化学杀虫剂混用的杀虫效果

OaEPV( 4 × 10<sup>6</sup> OBs/mL )分别与不同浓度的马拉硫磷、毒死蜱、高效氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、溴氰菊酯 1 : 1 混合稀释后 ,饲喂亚洲小车蝗 3 龄若虫 ,计算 LC<sub>50</sub>。结果得出 ,OaEPV 与毒死蜱、高效氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、溴氰菊酯混用对亚洲小车蝗无明显的增效作用 ,OaEPV 与马拉硫磷混用 ,具有一定的增效作用 ,增效比为 1.42 倍( 表 1 )。

马拉硫磷 ,OaEPV 单用及 OaEPV 与马拉硫磷混剂 3 组实验表明 :单独使用马拉硫磷的前 2 天 ,杀虫作用明显 ,但从第 3 天开始试虫的累积死亡率趋于不变 ;单独使用 OaEPV ,昆虫开始死亡 ,主要是在 5 天以后 ;而当与 OaEPV 混合使用后 ,前 5 天的杀虫效果和单独使用农药几乎没有区别 ,但从第 6 天开始试虫的累计死亡率逐渐上升 ,且上升趋势很明显( 图 1 )。

表 1 OaEPV 与不同化学杀虫剂混用对亚洲小车蝗的杀虫作用  
Table 1 Effects of OaEPV in combination with different chemical insecticides on *Oedaleus asiaticus*

农药类型 Pesticide types	处理 Treatment	致死中量( 95% 置信限 ) LC <sub>50</sub> ( 95% limits ) mg/mL	斜率 b Slope ± SE	比值 Ratio
有机磷农药 Organophosphorous	马拉硫磷 Malathion	0.0672( 0.0539 ~ 0.0902 )	2.235 ± 0.482	1.42
	OaEPV + 马拉硫磷 Malathion	0.0474( 0.0344 ~ 0.0592 )	2.611 ± 0.056	
	毒死蜱 Chlorpyrifos	0.0347( 0.0272 ~ 0.0415 )	3.122 ± 0.503	1.13
	OaEPV + 毒死蜱 Chlorpyrifos	0.0306( 0.0216 ~ 0.0381 )	2.553 ± 0.476	
拟除虫菊酯 Pyrethroid	高效氯氰菊酯 β-cypermethrin	0.00984( 0.0078 ~ 0.0118 )	2.892 ± 0.485	1.21
	OaEPV + 高效氯氰菊酯 β-cypermethrin	0.00815( 0.0054 ~ 0.0104 )	2.170 ± 0.454	
	氟氯氰菊酯 Cyfluthrin	0.0138( 0.0081 ~ 0.0180 )	2.037 ± 0.458	1.08
	OaEPV + 氟氯氰菊酯 Cyfluthrin	0.0128( 0.0067 ~ 0.0173 )	1.928 ± 0.453	
	溴氰菊酯 Deltamethrin	0.00073( 0.00052 ~ 0.00098 )	2.408 ± 0.100	1.38
	OaEPV + 溴氰菊酯 Deltamethrin	0.00053( 0.00033 ~ 0.0010 )	2.162 ± 0.221	

表中的数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误。The data in the table indicate mean ± SE.

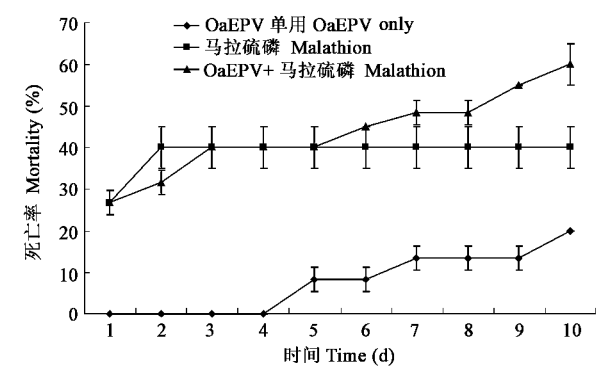


图 1 OaEPV 与马拉硫磷混合感染 3 龄亚洲小车蝗后的时间-死亡曲线

Fig. 1 Time-mortality curve of 3rd instar nymphs of *Oedaleus asiaticus* infected by OaEPV in combination with malathion

2.2 OaEPV 与化学杀虫剂混合感染亚洲小车蝗对其肠 CarE 和 GSTs 的影响

马拉硫磷、毒死蜱、高效氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、

溴氰菊酯分别与病毒 OaEPV 混合感染亚洲小车蝗若虫。测定其中肠部位的羧酸酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶的比活力(表 2):单用 OaEPV,若虫中肠部位的 CarE 相对比活力下降到 0.70,变化不显著;单用化学杀虫剂时,若虫中肠部位的 CarE 的比活力分别为对照的 3.62,3.73,1.73,4.37 和 0.51 倍,而与 OaEPV 混用后其比活力变为对照的 0.86,2.47,1.29,3.77 和 0.46 倍。其中 OaEPV 与马拉硫磷混用后比单用马拉硫磷相对比活力下降了 4.21 倍,下降幅度最大( $F = 12, df = 11, P < 0.05$ )。

OaEPV 与溴氰菊酯化学杀虫剂混用后比单用溴氰菊酯对中肠部位 GSTs 的比活力有明显的抑制作用( $F = 12, df = 11, P < 0.05$ )其相对比活力从 1.16 倍下降到 0.72 倍,下降了 1.61 倍。而 OaEPV 与其他化学杀虫剂混用后与单用化学杀虫剂对中肠部位 GSTs 的比活力无一定的显著性影响。

表 2 OaEPV 与不同化学杀虫剂混用对亚洲小车蝗中肠的 CarE 和 GSTs 比活力的影响

Table 2 Effect of OaEPV in combinations with chemical insecticides on CarE and GSTs specific activities in the midgut of *Oedaleus asiaticus*

处理 Treatment	CarE 酶比活力 CarE specific activity ( $OD_{600} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ )	比值 Ratio	GSTs 酶比活力 GSTs specific activity ( $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ )	比值 Ratio
马拉硫磷 Malathion	$159.62 \pm 9.82 \text{ b}$	3.62	$0.331 \pm 0.031 \text{ bc}$	1.00
OaEPV + 马拉硫磷 Malathion	$37.89 \pm 2.95 \text{ f}$	0.86	$0.246 \pm 0.025 \text{ c}$	0.74
毒死蜱 Chlorpyrifos	$164.52 \pm 10.07 \text{ b}$	3.73	$0.512 \pm 0.015 \text{ a}$	1.54
OaEPV + 毒死蜱 Chlorpyrifos	$109.06 \pm 8.99 \text{ c}$	2.47	$0.544 \pm 0.020 \text{ a}$	1.64
高效氯氰菊酯 $\beta$ -cypermethrin	$76.31 \pm 3.26 \text{ d}$	1.73	$0.320 \pm 0.027 \text{ bc}$	0.96
OaEPV + 高效氯氰菊酯 $\beta$ -cypermethrin	$56.80 \pm 3.10 \text{ e}$	1.29	$0.338 \pm 0.034 \text{ bc}$	1.02
氟氯氰菊酯 Cyfluthrin	$192.91 \pm 8.25 \text{ a}$	4.37	$0.358 \pm 0.029 \text{ bc}$	1.08
OaEPV + 氟氯氰菊酯 Cyfluthrin	$166.40 \pm 9.78 \text{ b}$	3.77	$0.286 \pm 0.021 \text{ c}$	0.86
溴氰菊酯 Deltamethrin	$22.52 \pm 1.24 \text{ f}$	0.51	$0.385 \pm 0.025 \text{ b}$	1.16
OaEPV + 溴氰菊酯 Deltamethrin	$20.46 \pm 1.11 \text{ f}$	0.46	$0.238 \pm 0.034 \text{ c}$	0.72
OaEPV	$30.94 \pm 2.37 \text{ f}$	0.70	$0.271 \pm 0.019 \text{ c}$	0.82
对照 CK	$44.10 \pm 2.45 \text{ ef}$	1.00	$0.332 \pm 0.015 \text{ bc}$	1.00

表中的数据为 3 次重复的平均值  $\pm$  标准误,同列数据后不同的小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ );下同。The data in the table indicate mean  $\pm$  SE, and data in the same column followed by the different letters at lower case differ significantly ( $P < 0.05$ ). The same below.

2.3 OaEPV 与化学杀虫剂混合感染亚洲小车蝗对其脂肪体 CarE 和 GSTs 的影响

测定不同处理亚洲小车蝗若虫的脂肪体部位 CarE 的比活力表明:单用 OaEPV,脂肪体 CarE 相对比活力下降到 0.93,无显著性差异;当 OaEPV 与上述化学杀虫剂混用后,其中与马拉硫磷、毒死蜱混用抑制了 CarE 的比活力,且单用化学杀虫剂与混剂相比,分别下降了 1.75 和 2.10 倍;与其他 3 种化学杀虫剂混用后,均表现出一定的诱导作用,其中氟氯氰

菊酯、溴氰菊酯两种化学杀虫剂则表现出了显著的诱导作用( $F = 12, df = 11, P < 0.05$ ) (表 3)。

单用 OaEPV,若虫的脂肪体部位的 GSTs 相对比活力为 1.40 倍,具有一定的诱导作用。当 OaEPV 与上述化学杀虫剂混用后,与马拉硫磷、毒死蜱、高效氯氰菊酯混用后比单独使用化学杀虫剂对其脂肪体的 GSTs 的比活力具有显著的诱导作用( $F = 12, df = 11, P < 0.05$ ),与氟氯氰菊酯混用则表现出显著的抑制作用( $F = 12, df = 11, P < 0.05$ ) (表 3)。

表 3 OaEPV 与不同化学杀虫剂混用对亚洲小车蝗脂肪体的 CarE 和 GSTs 比活力的影响

Table 3 Effect of OaEPV in combinations with chemical insecticides on CarE and GSTs specific activities in the fat body of <i>Oedaleus asiaticus</i>				
处理 Treatment	CarE 酶比活力 CarE specific activity ( $\text{OD}_{600} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ )	比值 Ratio	GSTs 酶比活力 GSTs specific activity ( $\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ )	比值 Ratio
马拉硫磷 Malathion	2.04 ± 0.40 e	0.28	0.116 ± 0.017 c	0.83
OaEPV + 马拉硫磷 Malathion	1.18 ± 0.37 e	0.16	0.269 ± 0.030 b	1.92
毒死蜱 Chlorpyrifos	33.65 ± 2.56 a	4.57	0.210 ± 0.040 bc	1.50
OaEPV + 毒死蜱 Chlorpyrifos	16.02 ± 1.67 b	2.18	0.396 ± 0.037 a	2.83
高效氯氰菊酯 $\beta$ -cypermethrin	6.11 ± 0.42 d	0.83	0.212 ± 0.042 bc	1.50
OaEPV + 高效氯氰菊酯 $\beta$ -cypermethrin	6.36 ± 0.39 d	0.86	0.366 ± 0.050 a	2.64
氟氯氰菊酯 Cyfluthrin	6.29 ± 0.42 d	0.85	0.263 ± 0.028 b	1.86
OaEPV + 氟氯氰菊酯 Cyfluthrin	11.73 ± 0.87 c	1.59	0.156 ± 0.026 c	1.09
溴氰菊酯 Deltamethrin	3.16 ± 0.34 e	0.43	0.218 ± 0.032 bc	1.57
OaEPV + 溴氰菊酯 Deltamethrin	13.81 ± 0.69 bc	1.88	0.170 ± 0.021 c	1.21
OaEPV	6.87 ± 0.42 d	0.93	0.196 ± 0.009 bc	1.40
对照 CK	7.36 ± 0.23 d	1.00	0.140 ± 0.020 c	1.00

3 讨论

OaEPV 作为一种增效剂 ,分别与马拉硫磷、毒死蜱、高效氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、溴氰菊酯混合感染亚洲小车蝗 ,其中与马拉硫磷混用时具有一定的增效性 ,其增效比为 1.42 倍。OaEPV 与上述化学杀虫剂的增效性表现不明显 ,可能是由于 OaEPV 的浓度较低。

单独使用化学杀虫剂 ,前 2 天杀虫效果明显 ,3 天后无明显作用 ;单独使用 OaEPV ,昆虫开始死亡主要是在 5 天以后 ;而 OaEPV 与化学杀虫剂混合使用后 ,前期与单独使用化学杀虫剂相差无几 ,第 5 天后杀虫效果有明显的增加。因此认为 ,化学杀虫剂与昆虫痘病毒的混合使用 ,不但可以弥补痘病毒杀虫缓慢的缺点 ,降低化学杀虫剂的用量 ,还可以得到较长效的防止效果。

为了探讨 OaEPV 与化学杀虫剂混用的作用机制 ,我们从与害虫抗药性相关的代谢机理出发 ,研究两种解毒酶 CarE 和 GSTs。结果表明 ,单用化学杀虫剂时 ,除溴氰菊酯外 ,若虫的中肠部位 CarE 的比活力基本都高于对照 ,具有一定的抗性。而 OaEPV 与化学杀虫剂混用后 ,OaEPV 能抑制若虫的中肠部位 CarE 的比活力 ,其中 OaEPV 与马拉硫磷混用相对比活力下降了 4.21 倍 ,下降幅度最大。与生测结果一致。而对于若虫脂肪体部位 CarE 的比活力变化 ,OaEPV 对有机磷类的化学杀虫剂有一定的抑制作用 ,对拟除虫菊酯类的化学杀虫剂则具有一定的诱导作用。中肠和脂肪体部位 GSTs 的变化无一定的

规律性。这说明若虫在生理上在受到抑制的同时也对外界刺激有一定的自卫能力。

组织病理学研究表明 ,OaEPV 通过饲喂先进入亚洲小车蝗中肠 ,再进入其脂肪体部位开始增殖 (Wang *et al.* ,1995)。这些组织器官与化学杀虫剂的渗透、排泄、分解代谢作用有关 ,参与了各类化学杀虫剂的解毒代谢作用。研究表明 ,病毒进入虫体后 ,在病毒增殖过程中 ,破坏其昆虫体内的酶系统 (Jordao *et al.* ,1996) ,病毒进入寄主体内能够导致中肠结构的病理性变化 ,并且抑制了中肠酯酶的活力(狄蕊等 2006)。也有研究表明低浓度的 Bt 对硫丹具有显著的增效作用 (David and Daly ,1996) ,混用的增效机理可能是 :病毒感染昆虫 ,可破坏昆虫体内的中肠、脂肪体等器官的功能结构 ,影响杀虫剂的排泄 ,也可使昆虫的生理代谢紊乱 ,影响 CarE、GSTs 对杀虫剂的解毒能力 ,抑制了化学杀虫剂对这些酶的活力。吴刚等 (2001)研究表明 ,苏云金杆菌预处理敏感小菜蛾 ,能显著地抑制羧酸酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶的活性。Bt 预处理后幼虫体内的谷胱甘肽 S-转移酶和羧酸酯酶的比活力均有不同程度的升高(宋健等 2006)。然而 ,化学杀虫剂与病毒在昆虫体内的代谢非常复杂 ,仅靠测定这两种解毒酶系统的变化难以全面阐明其增效的作用机理 ,有关病毒和化学杀虫剂相互增效的作用机理 ,还有待于进一步研究。

参 考 文 献 (References)

Biache G , Severini M , Injac M , 1989. Sensitivity of *Plutella xylostella* to a mixture of nuclear polyhedrosis virus of *Mamestra brassicae* and a

synthetic pyrethroid. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*, 54( 3a ): 917 – 921.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72 : 248 – 254.

David JP, Daly JC, 1996. Toxicity of mixtures of *Bacillus thuringiensis* with endosulfan and other insecticides to the cotton boll worm *Helicoverpa armigera*. *Pestic. Sci.*, 48 : 199 – 204.

Di R, Chen YF, Bai SF, Chen XX, 2006. Effects of *Cotesia plutellae* polydnaviruses on partial tissues of host *Plutella xylostella* larvae. *Chinese Journal of Biological Control*, 22( 4 ): 268 – 274.[ 狄蕊, 陈亚锋, 白素芬, 陈学新, 2006. 菜蛾盘绒茧蜂多分 DNA 病毒对寄主小菜蛾幼虫体内部分组织的影响. 中国生物防治, 22( 4 ): 268 – 274 ]

Habig WH, 1981. Assays for differentiation of glutathione S-transferase. In : William BJ ed. *Method in Enzymology*. Academic Press, New York. 398 – 405.

Jordao BP, Terra WR, Ribeiro AF, 1996. Trypsin secretion in *Musca domestica* larval midguts : a biochemical and immunocytochemical study. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 26( 4 ): 337 – 346.

Lu HS, 1998. *Molecular Biology of Insect Viruses*. China Agricultural Sciencetech Press, Beijing. 619 – 624. [ 吕鸿声, 1998. 昆虫病毒分子生物学. 北京 : 中国农业科技出版社. 619 – 624 ]

Song J, Wang RY, Zhang HJ, Feng SL, Wang JY, Cao WP, Du LX, Zang J, Song FP, 2006. The sensitivity of scaravaeoidae larvae infected with Bt to insecticides and its enzyme activity. *Chinese Journal of Biological Control*, 22( 2 ): 128 – 132.[ 宋健, 王容燕, 张海剑, 冯书亮, 王金耀, 曹伟平, 杜立新, 张杰, 宋福平, 2006. 感染 Bt 的铜绿丽金龟幼虫对化学杀虫剂的敏感性变化及相关酶活性测定. 中国生物防治, 22( 2 ): 128 – 132 ]

Vail PV, Seay RE, Debolt J, 1980. Microbial and chemical control of the cabbage looper on fall lettuce. *Journal of Economic Entomology*, 73 ( 1 ): 72 – 75.

van Asperen K, 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colometric method. *J. Insect Physiol.*, 8 : 401 – 406.

Wan CS, Sun XL, Zhang GY, 2000. Synergism of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus in combinations with chemical insecticides and lecithin. *Acta Entomologica Sinica*, 43( 4 ): 346 – 354.[ 万成松, 孙修炼, 张光裕, 2000. 棉铃虫核型多角体病毒与化学杀虫剂和卵磷脂混用的增效作用. 昆虫学报, 43( 4 ): 346 – 354 ]

Wang LY, 1994. Surveys of entomopoxviruses of rangeland grasshoppers in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 27( 4 ): 60 – 63.[ 王丽英, 1994. 我国草原蝗虫痘病毒资源调查. 中国农业科学, 27( 4 ): 60 – 63 ]

Wang LY, Ren G, Wang SF, Zhu QH, 1995. Studies on morphology and development of *Oedaleus asiaticus* entomopoxverus propagated in *Oedaleus infernalis*. *Entomologia Sinica*, 2( 4 ): 321 – 329.

Wu G, You MS, Zhao SX, Jiang SR, 2001. Synergism of *Bacillus thuringiensis* pretreatment to organophosphate and carbamate insecticides in *Plutella xylostella*. *Acta Entomologica Sinica*, 44( 4 ): 454 – 461. [ 吴刚, 尤民生, 赵士熙, 江树人, 2001. 苏云金杆菌预处理小菜蛾对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的增效作用. 昆虫学报, 44 ( 4 ): 454 – 461 ]

Zhang H, Wang XR, Kuang SZ, Wu JF, Lv ZZ, 2006. Effect of sublethal concentration of insecticides and SINPV on the activities of SOD, CAT and POD in *Spodoptera litura*. *Acta Entomologica Sinica*, 49( 5 ): 775 – 779.[ 张慧, 王晓容, 匡石滋, 吴洁芳, 吕作舟, 2006. 斜纹夜蛾核型多角体病毒与两种亚致死剂量的农药混用对斜纹夜蛾体内三种抗氧化酶活性的影响. 昆虫学报, 49( 5 ): 775 – 779 ]

( 责任编辑：赵利辉 )